الفصل الثاني والثلاثون

الالتهاب الشعبي المعدي
INFECTIOUS BRONCHITIS

جاك جيلب الابن، ومارك و. جاكوود
Jack Gelb, Jr. and Mark W. Jackwood

الملخص Summary

يتسبب الالتهاب الشعبي المعدي بفيروس الالتهاب الشعبي وهو أحد أعضاء عائلة الفيروسات التاجية *Coronaviridae*. هذا الفيروس عالي الخصوصية للعائل يسبب عدوى طبيعية في الدجاج فقط. تُحدث العدوى الأولية في الدجاج الصغير مؤدية إلى مرض تنفسي تقليدي، لكن قد تسبب بعض العترات آفات في الكلى. يعاني الدجاج البياض والأمهات عادة من خسائر في إنتاج البيض مع أو بدون أعراض مرض تنفسي. العديد من الأنواع المصلية للفيروس مسؤولة عن الوبائيات في الدجاج بالرغم من استخدام اللقاحات الحية المضعفة والميتة، وإن هذا المرض هو مشكلة في النمو لمربي الدجاج بسبب توفر عدد محدود من الأنواع المصلية للتحصين والحماية التصالبية ضد العترات الحقلية المندمجة قد تكون ضئيلة.

تعريف العامل المسبب Agent Identification

يعتمد التشخيص الافتراضي في القطعان المشتبه بها على الأعراض الإكلينيكية الثابتة مع المرض وإظهار مؤشرات إنتاج الأجسام المناعية في المصل لفيروس الالتهاب الشعبي بواسطة الإليزا. للتشخيص التأكيدي التعريفي يجب عزل وتعريف النوع المصلي المسبب. يمكن الحصول على التعريف المصلي بواسطة تعادل الفيروس أو منع تلازن الدم أو الأجسام المضادة أحادية النسيلة أو تفاعل البلمرة المتسلسل بالنسخ العكسي. يمكن أن تستعمل اختبارات الحماية التصالبية في الدجاج لتحديد الحماية المرتقبة الناتجة بواسطة التحصين باللقاحات المختلفة لفيروس الالتهاب الشعبي أو العترات الحقلية للسيطرة على المرض.

الكشف المصلي في العائل Serologic Detection in the Host

يمثل اختبارالإليزا أفضل الطرق لكشف استجابة الأجسام المضادة في المصل لكنها لا تتعرف على الأجسام المضادة النوعية للنوع المصلي. تفيد استجابة الأمصال الحادة والناقهة في تشخيص المصل ولرصد معيار تحصين القطعان.

المقدمة Introduction

الالتهاب الشعبي المعدي هو مرض عالي الوبائية حاد إكلينيكياً للجهاز التنفسي والبولي التناسلي في الدجاج يسببه فيروس الالتهاب الشعبي المعدي وهو أحد أعضاء الفيروسات التاجية. المرض شائع في جميع أنحاء العالم حيث يُنتج الدجاج تجارياً. تعتبرالإصابات المختلطة التي تضم فيروس الالتهاب الشعبي وفيروس مرض نيوكاسيل وفيروس أدينو الطيور مجموعة ١ والميكوبلازما والإشريكية القولونية شائعة وقد تربك الجهود التشخيصية.

تم إدراك العديد من الأنواع المصلية لفيروس الالتهاب الشعبي ولها أهمية عملية في السيطرة على المرض لأن المناعة عقب الإصابة أو التحصين بنوع مصلي واحد عادة لا يحمي ضد الإصابات بالأنواع المصلية غير المرتبطة. في الولايات المتحدة، أغلب الأنواع المصلية للفيروس المعزول في الدواجن هي ماساشوسيتس Massachusetts (Mass)، وكونيكتكت Connecticut (Conn)، وأركنساس Arkansas (Ark)، وجيورجيا Georgia، وديلاور Delaware (DE/072/92)، وكاليفورنيا California. المغايرات الأنتيجينية التي لم تدرك سابقاً تم عزلها من القطعان البياضة متعددة العمر والتي بها مرض تنفسي أو مشاكل إنتاج البيض (6). أيضاً سجلت الأنواع المصلية الأنتيجينية المغايرة العديدة في الأقطار الأوروبية وأستراليا (3). بدون شك، يركز عزل العديد من العترات الكثيرة من هذه البلاد والأقطار الأخرى على زيادة وجود فيروس الالتهاب الشعبي المعدي. للتعمق في مرجعية الالتهاب الشعبي يرجع إلى King and Cavanaugh (10).

المرض الإكلينيكي Clinical Disease

الدجاج عند كل الأعمار قابل للإصابة بالالتهاب الشعبي المعدي. قصر فترة الحضانة (٢٤ – ٧٢ ساعة) يمثل خاصية منفردة للمرض. تظهر الطيور الصغيرة أعراضاً مرضية تنفسية حادة وآفات في القصبة الهوائية. يمكن أن تصل نسبة الإصابة ١٠٠٪، لكن النفوق يكون عموماً أقل من ٥٪ في الوبائيات غير المضاعفة بالممرضات الثانوية أو الإصابات الراجعة. يسبب المرض في الطيور البياضة انخفاض إنتاج ونوعية البيض. لوحظ ارتشاح الخلايا الليمفاوية وتلف الخلايا الطلائية في قناة البيض (جدار قناة البيض). تحدث العترات الممرضة للكلى Nephropathogenic مثل

Holte وGray وAustralian تضخماً في الكلى مع تمدد الأنابيب والحالب واحتوائه على بلورات حمض اليوريك. قد يحدث إسهالاً وجفافاً وخمولاً ونفوق الطيور المصابة.

جمع العينات Sample Collection

يجب الحصول على العينات لعزل فيروس الالتهاب الشعبي بمجرد ظهور أعراض المرض الإكلينيكي. تفضل المسحات من القصبة الهوائية وتوضع مباشرة في بيئة باردة مع مضادات حيوية لوقف النمو البكتيري والفطري ولحفظ حيوية الفيروس. تستخدم المسحات القطنية المعقمة للطيور الكبيرة أو مسحات كالجي نوع Type 4 Calgiswabs® (Hardwood Products Company, Guilford, Maine) للصوص الصغيرة وتستعمل لمسح من ٥ – ١٠ طيور مصابة لكل قطيع. توضع المسحات في ٢ – ٣ مل من شوربة فوسفات التربتوز المعقمة الباردة بي إتش ٧ – ٧,٢ تحتوي على ١٠٠٠٠ وحدة دولية لكل ملليتر من البنسلين، و١٠٠٠٠ ميكروجرام لكل ملليتر من ستربتوميسين، و٢٥٠ وحدة دولية لكل ملليتر من أمفوتيرسين B. توضع أنابيب المسحات سريعاً على الثلج وتجمد عند –٢٠°م.

الأنسجة الأخرى مثل الرئة والكلى وقناة البيض واللوز الأعورية ممكن أن تجمع بطريقة معقمة. توضع في أكياس بلاستيكية محكمة الغلق أو أنابيب معقمة وتجمد عند –٢٠°م. ممكن أن تجمع مسحات مجمعية وتعامل كما وصف سابقاً. يجب أن تجمد كل المسحات والأنسجة وتنقل في إناء معزول إلى مختبر التشخيص الفيرولوجي.

بسبب بقاء الفيروس في الجهاز المعوي، يمكن عزل بعض العترات من اللوز الأعورية والمسحات المجمعية لعدة أسابيع بعد اختفاء الأعراض الإكلينيكية. وبناءً عليه لا يؤكد عزل الفيروس من هذه المواضع دوره كعامل مسبب في وبائيات المرض الحديثة.

تذاب بيئة شوربة فوسفات التربتوز المجمدة والمحتوية على المسحات من المجمع والقصبة وتخلط وتحضن عند درجة الغرفة (حوالي ٢٢°م) لمدة ٣٠ – ٦٠ دقيقة قبل الحقن لتقليل إمكانية التلوث البكتيري والفطري. يمكن تجنب التلوث بالطرد المركزي عند ١٠٠٠ إكس جي لمدة ١٥ دقيقة، وبعد ذلك تمرر السوائل الرائقة خلال مرشح الحقنة ٠,٤٥ ميكرون Acrodisc® (Gelman Sciences, Ann Arbor, Mich.) تجهز الأنسجة المطحونة (١٠٪ وزن/حجم) في شوربة فوسفات التربتوز مع مضاد حيوي بطحن الرئة والكلية وقناة البيض أو اللوز الأعورية باستعمال طاحونة أنسجة زجاجية أو هون معقم وساحق. تحضن الأنسجة المطحونة عند درجة الغرفة لمدة ٣٠ – ٦٠ دقيقة. يمكن استخدام الدجاج لمساعدة عزل فيروس الالتهاب الشعبي في القطعان (5). يوضع الدجاج الخالي من الممرضات النوعية المحصن ضد النوع أو الأنواع المصلية اللقاحية مع دجاج قابل للإصابة بفيروس الالتهاب الشعبي المعدي في أعشاش أو أقفاص في عنابر دجاج تجارية. بعد فترة تعرض أسبوع، يفصل الدجاج المعرض حقلياً ويجمع منه المسحات من القصبة

الهوائية لمحاولات عزل الفيروس. تزيد التكرارات الأسبوعية المتعاقبة المتعددة من احتمالية عزل الفيروس. يعطي استعمال الدجاج القابل للإصابة sentinels المحصن بفيروس التهاب الشعب المعدي فرصة أفضل لعزل المغايرات الأنتيجينية للفيروس الخالية من الأنواع المصلية لفيروس اللقاح الملوثة التي قد تدور في قطعان الدجاج.

المواد وبيئات الزرع المفضلة Preferred Culture Media and Substrates

ينمو فيروس الالتهاب الشعبي أكثر شيوعاً في أجنة البيض ومزرعة عضو القصبة الهوائية (TOC) ومزرعة خلية كلية الدجاج. يفضل بيض الأجنة لمحاولات العزل الأولي.

بيض أجنة الدجاج Embryonated Chicken Eggs

بيض أجنة الدجاج من مصدر خالي من الممرضات النوعية يوصى به في العزل الفيروسي. تحقن ١٠ أجنة عمر ٩ — ١١ يوماً بطريقة كيس الكوريوني السقائي بكمية ٠.٢ مل من السائل المعد للحقن. يفحص البيض يومياً، ويعتبر النفوق بين الأيام الثاني والسابع بعد الحقن نوعياً للفيروس. عند اليوم الثالث بعد الحقن، تؤخذ خمس بيضات من الحضانة وتوضع عند ٤ °م لمدة ١٨ — ٢٤ ساعة. تجمع السوائل بطريقة معقمة من البيض المحقون ويجب أن تكون خالية من البكتيريا والفطريات وتعطي تفاعلاً سلبياً لتلازن الدم مع خلايا دم الدجاج. تحضن الأجنة الباقية حتى سبعة أيام وتلاحظ بعد ذلك للآفات النمطية لفيروس الالتهاب الشعبي مثل التقزم والالتواء وعدم انشقاق الريش للخارج وترسيب أملاح اليوريا في نسيج الكلى. يلاحظ غالباً النزيف الجلدي مع العترات المميتة للجنين من فيروس الالتهاب الشعبي. تجمع الأغشية الكوريوني الأنتويس وتطحن وتختبر لفيروس الأدينو مجموعة ١ بطريقة الانتشار المناعي. إصابات الدجاج بمجموعة ١ من فيروسات الأدينو تكون شائعة ويحدث الفيروس غالباً أجنة متقزمة لا يمكن تمييزها من الأجنة المصابة بفيروس الالتهاب الشعبي المعدي. بعض المعزولات الحقلية لفيروس الالتهاب الشعبي تكون غير متأقلمة على الأجنة ولا تسبب النفوق أو تحدث آفات عند التمرير الأول. من ثم يجب عمل ثلاث تمريرات على الأقل قبل محاولة عزل الفيروس حتى تعتبر سالبة. يجب إعطاء الانتباه الخاص لترسيبات أملاح اليوريا في أنسجة الكلية في تقييم الأجنة التي تم حقنها بالمعزولات الحقلية.

مزارع العضو Organ Cultures

يمكن استخدام مزرعة عضو القصبة الهوائية من الدجاج لعزل فيروس الالتهاب الشعبي. الميزة الأولية في استخدام مزرعة عضو القصبة الهوائيةعن بيض الأجنة أن العترات الحقلية غير المتأقلمة على الأجنة من فيروس الالتهاب الشعبي تحدث تأثيرها على الأهداب في مزرعة عضو القصبة الهوائية عند أول تمرير وبسرعة بدون الحاجة

إلى تمريرات متعددة. العيب في أن استخدام مزرعة الخلية يحتاج إلى إمكانيات في التجهيز والمحافظة على مزرعة عضو القصبة الهوائية. تشمل التغيرات المحتملة الأخرى في مزرعة عضو القصبة الهوائية تفريقاً أو كشف فيروسات أخرى غير فيروس الالتهاب الشعبي في العينات الحقلية. يحدث فيروس مرض نيوكاسل والالتهاب الشعبي سكوناً شديداً في الأهداب ciliostasis عند اليوم الثالث بعد الحقن. تتكاثر فيروسات أدينو في مزرعة عضو القصبة، لكن قد لا يكتشف وجودها لأنها لا تحدث سكوناً كاملاً وسريعاً في الأهداب.

مزارع الخلية Cell Cultures

لا يوصي بالعزل الأولي لفيروس الالتهاب الشعبي في مزرعة خلية كلية الدجاج لأن الفيروس يحتاج للتأقلم في بيض الأجنة قبل تنميته في مزرعة الخلية.

تعريف المسبب Agent Identification

الخصائص الفيزيوكيميائية Physicochemical Properties

الفيروسات التاجية هي فيروسات ذات غلاف وبها شريط مفرد من الحامض النووي الريبوزي مع التماثل اللولبي (انظر الفصل الرابع والأربعون من الكتاب) وهو فيروس متعدد الشكل وقطره يتراوح من ٨٠ – ١٢٠ نانوميكروناً. يتكون الغلاف من أشواك بروتينية كبيرة على شكل كؤوس تعطي سطح الفيروس المظهر الإكليلي المتميز. يحدث تكاثر الفيروس التاجي في السيتوبلازم. لا تمنع مثبطات دي إن إيه مثل القواعد النوكلوتيدية الهالوجينية 5-iodo-2′-deoxyuridine تكاثر فيروس الالتهاب الشعبي دالة على أن الفيروس يحتوي آر إن إيه وليس دي إن إيه. تموت معظم عترات فيروس الالتهاب الشعبي بعد ١٥ دقيقة عند ٥٦ °م. يموت الفيروس بواسطة مذيبات الدهون مثل الكلوروفورم والإيثير. يمكن أن يستعمل أيضاً اختبار الحساسية لمذيبات الدهون لاستقصاء معزولات الفيروس الحقلية للفيروسات المُلوثة المجردة من الغلاف مثل فيروس أدينو مجموعة ١ وفيروس ريو.

التعرف المصلي بواسطة تعادل الفيروس ومنع تلازن الدم
Serological Identification by Virus Neutralization (VN) and Hemagglutination-Inhibition (HI)

التعادل الفيروسي Virus Neutralization

إن تعادل المعزولات الحقلية لفيروس الالتهاب الشعبي بواسطة المضاد المصلي النوعي للنوع المصلي لفيروس الالتهاب الشعب يبرهن على تماثلها. يمكن أن يجرى هذا الاختبار في أجنة البيض أو مزرعة خلايا كلية الدجاج أو مزرعة عضو القصبة الهوائية. يمكن أن يؤدى الاختبار باستعمال طريقة ألفا (مصل ثابت وفيروس مخفف) أو طريقة بيتا (مصل مخفف مع فيروس ثابت). بالإضافة إلى طريقة الفيروس الثابت والمصل الثابت لتعادل

الفيروس (2) التي تكون مفيدة في تصنيف المعزولات الحقلية للفيروس. يجرى الاختبار في أجنة البيض بمفاعلة ٣٢ — ٣٢٠ متوسط جرعات ممرضة للأجنة ($EID_{50}s$) من فيروس الالتهاب الشعبي (المعزولات الحقلية) مع المضاد المصلي لعترات معروفة تحتوي على ١ — ٢٠ وحدة من الأجسام المضادة. يحدد تركيز وحدة الجسم المضاد بواسطة المعايرة ضد النوع المصلي للفيروس المشابه. أعلى تخفيف من المضاد المصلي الذي يحمي ٥٠٪ من الأجنة المحقونة يحتوي على وحدة جسم مضاد واحدة. لأن الإصابات الراجعة باثنين أو أكثر من الأنواع المصلية لفيروس الالتهاب الشعبي يكون شائعاً، فإن اختبارات التعادل الفيروسي التبادلية تكون مطلوبة أحياناً للتعرف على كل فيروسات الالتهاب الشعبي في المعزولات الحقلية. يتفاعل المضاد المصلي للمعزولة الحقلية ضد أنواع الفيروس المصلية المعروفة ليبرهن على تشابهات أو تماثل النوع المصلي المسبب.

تثبيط التلازن الدموي Hemagglutination-Inhibition

يحضر أنتيجين تلازن الدم للاختبار من السوائل الكوريونيالانتويس اللقائحي التي تم جمعها من أجنة البيض المحقونة بفيروس للالتهاب الشعبي وتركز ١٠٠ مرة بواسطة الطرد المركزي الفائق. يعامل الفيروس المركز بإنزيم نيورامينيداز (17) لمدة ساعتين عند ٣٧°م. تجرى معايرة الأنتيجين في أطباق المعايرة الدقيقة بعدد حفر ٩٦ حفرة وشكل القاع مثل حرف U باستعمال خلايا الدم الحمراء للدجاج. أُعتقد في بادئ الأمر أن معاملة الفيروس المركز بإنزيم فوسفوليبيز سي البكتيري bacterial phospholipase C تمكن الفيروس من تلازن خلايا الدم الحمراء للدجاج (12, 1)، إلا أن الأنتيجينات الناتجة باستخدام تجهيزات فوسفوليبيز عالية النقاوة غالباً لها عيارية منخفضة عن هذه المنتجة باستعمال تجهيزات فوسفوليبيز غير النقية. حددت دراسات تالية (17) أن معاملة الفيروس بتجهيزات نيورامينيداز النقية يؤدي إلى مستوى عالي من الأنتيجينات الملزنة للدم بثبات. قد يستعمل اختبار منع تلازن الدم الدقيق للتصنيف المصلي لفيروسات الالتهاب الشعبي (12, 1). يحضر أنتيجين التلازن المعامل بنيورامينيداز أولاً من المعزولات الحقلية. يضاف تركيز ٤ — ٨ وحدات تلازن دم إلى تخفيفات ثنائية (١ : ٢ إلى ١ : ١٠٢٤) من المضاد المصلي لفيروس الالتهاب الشعبي المعلوم. بعد التحضين عند درجة الغرفة لمدة ٣٠ دقيقة، تضاف خلايا الدم (٠,٥ — ١٪)، يقرأ الاختبار بعد ٣٠ — ٦٠ دقيقة. منع التلازن للمعزولة الحقلية بالمضاد المصلي المعلوم يتعرف على النوع المصلي لفيروس الالتهاب الشعبي.

إنتاج مضادات مصلية للتصنيف المصلي للتعادل الفيروسي ومنع التلازن
Production of Serotyping Antiserum for VN and HI

تحضر في دجاج خالي من الممرضات النوعية بحقن دجاج يتراوح عمره من ٣ — ٨ أسابيع في القصبة الهوائية بحوالي ١٠^{5} EID_{50} من فيروس الالتهاب الشعبي لكل طائر. يوضع الدجاج في غرف عزل أو وحدات عزل هورسفال Horsfall. بعد أسبوعين بعد الحقن، يعاد حقن الدجاج بالحقن الوريدي بجرعة ١٠^{5} EID_{50} على الأقل من فيروس الالتهاب الشعبي. تجمع عينات الدم من الدجاج بعد أسبوعين من الحقن الوريدي بفيروس الالتهاب الشعبي. يجمع المصل ويعامل عند ٥٦°م لمدة ٣٠ دقيقة قبل إمكانية استعماله في طرق التصنيف المشار إليها في العنوان. إنه من المهم لمضادات المصل أن تكون عالية التخصصية للأنواع المصلية المتماثلة من فيروس الالتهاب الشعبي وأن لا تتفاعل تصالبياً مع الأنواع المصلية المغايرة للفيروس. إن الحقن المتكرر (٣ مرات أو أكثر) أو استعمال المحفزات المناعية في تجهيز الأمصال المضادة للتصنيف المصلي لا ينصح به لأن الأجسام المضادة قد تتفاعل تصالبياً مع الأنواع المصلية المغايرة لفيروس الالتهاب الشعبي.

التعرف الأنتيجيني لفيروس الإلتهاب الشعبي بالأجسام المضادة أحادية النسيلة
Monoclonal Antibody Identification of IBV Antigen

تم إنتاج الأجسام المضادة أحادية النسيلة متخصصة النوع لتحت الوحدة S-1 من البروتينات النشوية للأنواع المصلية Mass و Conn و Ark (8) واُستخدمت للتعرف على الأنواع المصلية المحددة بواسطة إليزا الجذب الأنتيجيني (AC-ELISA) (16). الأنواع الأخرى قد تعرف على أنها فيروس الالتهاب الشعبي لكن لا تعرف أنها نوع مصلي متخصص باستعمال الأجسام المضادة أحادية النسيلة متخصصة المجموعة للبروتينات النشوية M لفيروس الالتهاب الشعبي (8, 16) السوائل اللقائقي من الأجنة المحقونة بالفيروس هي الأفضل في التعرف بطريقة الإليزا بالرغم من إمكانية استخدام الأنسجة المتجانسة. أُجري أيضاً التقييم باستخدام صبغة إنزيم بيروكسيداز المناعية (15) والتألق المناعي للأجسام المضادة للتعرف على الأنواع المصلية باستعمال الأجسام المضادة أحادية النسيلة لفيروس للالتهاب الشعبي.

تفاعل البلمرة المتسلسل بطريقة النسخ العكسي
Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction (RT-RCR)
التعرف Identification

تم تطوير نوعان من تفاعل البلمرة المتسلسل للتعرف على الأنواع المصلية لفيروس الالتهاب الشعبي. كلا النوعين يستغل الفروق في التتابع المرتبط بالنوع المصلي في تحت الوحدة S-1 من جين البروتينات النشوية للأشواك، وتم تطوير تحليل الاختلاف في طول القطع بعد القصر الإنزيمي restriction fragment length polymorphism (RFLP)

بطريقة تفاعل البلمرة المتسلسل RT-PCR الذي يفرق الأنواع المصلية بناءً على الأشكال الفريدة للأحزمة في الفصل الكهربائي للقصر الأنزيمي للقطع المهضومة S-1 عقب تعظيم الجينات بتقنية RT-PCR (13). إن تقنية RFLP RT-PCR يمكن أن تستخدم بالاتفاق مع مسبار الحامض النووي الملصق بالبيوتين لاكتشاف الفيروس في سوائل البيض عقب حقن البيض بالعينات الإكلينيكية (7). يستطيع اختبار RFLP RT-PCR التعرف على كل الأنواع المصلية المعروفة لفيروس الالتهاب الشعبي وأيضاً الفيروسات المغايرة. تطورت طريقة RT-PCR لتعريف أنواع فيروس الالتهاب الشعبي المصلية (9). يستعمل بوادئ جين S-1 gene primers النوعية للأنواع المصلية Mass و Conn و Ark و JMK بالارتباط مع البادئ العام الذي يعظم كل الأنواع المصلية للفيروس. تم تطوير البوادئ للأنواع المصلية De/072/92 و California. يمكن تحديد الأنواع المصلية المغايرة الأخرى على أنها فيروس الالتهاب الشعبي باستعمال بوادئ عامة، لكن لا يمكن التعرف على النوع المصلي المتخصص. يمكن التعرف على الإصابات المتسببة بأنواع فيروس الالتهاب الشعبي المصلية العديدة. لا تعطي أي من اختبارات التعريف للأنواع المصلية بتفاعل البلمرة العكسي كما توجد الآن معلومات على ضراوة الفيروس أو إذا كانت المعزولة مشتقة من لقاحات مضعفة.

دراسات الإعداء التصالبية Cross-Challenge Studies

تمثل اختبارات الإعداء التصالبية في الدجاج إضافة مهمة للتصنيف المصلي للتوصيف الأنتيجيني للمعزولات الحقلية لفيروس الالتهاب الشعبي. إن تحصين الدجاج بالأنواع المصلية المحددة أنتيجينياً قد يحدث درجة عالية من الحماية عن المتوقعة على أساس نتائج التصنيف المصلي. يجرى بتحصين ١٠ دجاجات خالية من الممرضات النوعية عمرها من ٣ — ٦ أسابيع بواسطة التنقيط في العين بالأنواع المصلية المعلومة من فيروس الالتهاب الشعبي والإعداء بعد أربعة أسابيع بالتنقيط في العين بالمعزولة الحقلية غير المعروفة. يشمل الضوابط المناسبة في اختبارات الإعداء التصالبية. يجب أن يحمى الدجاج المحصن والذي تم تحديده بالعترة المماثلة ويكون الدجاج غير المحصن في المجموعة الضابطة والمحقون بفيروس الإعداء قابلاً للعدوى. توفر إمكانيات العزل لمنع العدوى التصالبية المهملة بين المجاميع المحصنة بالأنواع المصلية المختلفة. عادة تقيم الحماية بجمع مسحات من القصبة بعد اليوم الرابع أو الخامس بعد الإعداء وتقييمها كفيروس الإعداء بعمل محاولات العزل الفيروسي في أجنة البيض. الدجاج الذي لا يعزل منه الفيروس يعتبر محمياً أو غير مصاب. الطرق الأخرى لتحديد الحماية عقب الإعداء تشمل تقييم الآفات المجهرية في القصبة الهوائية أو قياس نشاط الأهداب في مزرعة عضو القصبة الهوائية (14).

يجب أن تستعمل المعزولات الحقلية المفاجئة أنتيجينياً كفيروسات إعداء عقب تحصين الدجاج الخالي من الممرضات النوعية بالقاح أو اللقاحات المحتوية على نوع أو الأنواع المرخصة حالياً للاستعمال في المنطقة أو القطر

حيث مكان اكتشاف المعزولة. إن نتائج هذه الدراسات سوف تبرهن على الحماية التصالبية المرتقبة للقاح أو اللقاحات ضد إعداء المعزولة الحقلية.

الكشف المصلي في العائل Serologic Detection in the Host

أفضل طرق التشخيص المصلي للإصابة في قطعان الدجاج بواسطة إظهار استجابة الأجسام المضادة المتزايدة أو الصاعدة في المصل في الدجاج الناقه من الإصابة باستخدام اختبار الإليزا. تكشف أطقم الإليزا المتوفرة تجارياً الأجسام المضادة الشائعة لكل الأنواع المصلية للفيروس (IDEXX, Westbrook, Maine; Kirkegaard and Perry Laboratories, Gaithersburg, Md.) ولا تستطيع التعرف على الأجسام المضادة الخاصة بالأنواع المصلية بواسطة عترات فيروس الالتهاب الشعبي المسؤول عن الوبائيات. رغم ذلك، الإليزا عالية القيمة وغير مكلفة وسهلة الاستخدام للتشخيص المصلي للفيروس لاستبعاد المسببات الشائعة الأخرى للمرض التنفسي مثل فيروس مرض نيوكاسيل وفيروس التهاب الحنجرة والقصبة الهوائية أو الميكوبلازما. تتوافر تجارياً الأطقم التجارية مع تسهيلات تحليل النتائج بالكمبيوتر. يستعمل نظام إليزا باستعمال أطباق المعايرة الدقيقة (٩٦ حفرة) وطريقة تخفيف المصل الفردي لتقييم الحالة المناعية في القطعان. تختبر عينات الأمصال الحادة والناقهة وتفضل من دجاج في قطيع مشتبه إصابته بفيروس الالتهاب الشعبي بواسطة الإليزا. يوصى بتخزين المصل من الحالات الحادة عند −٢٠ °م حتى الحصول على عينات المصل من الحالات الناقهة. عندئذ يمكن اختبار كلا المجموعتين من الأمصال عند نفس الوقت لتقليل التباين. إن الزيادة في عيارية الأجسام المضادة بين عينات المصل الحادة والناقهة يكون معبراً عن الإصابة بفيروس الالتهاب الشعبي. قورنت أنظمة الإليزا لقياس الأجسام المضادة للفيروس في المصل مع الفحص المصلي باستخدام التعادل الفيروسي ومنع التلازن ووجد أنها تعطي نتائج مشجعة (19, 18).

إن استعمال اختبارات تعادل الفيروس ومنع التلازن للتشخيص المصلي لا يوصى به عموماً. هذه الاختبارات مكلفة ومجهدة للاستخدام على الأسس الروتينية أو التقليدية، بالإضافة إلى الحكم على النتائج قد يكون صعباً بسبب احتواء أمصال الدجاج على أجسام مضادة تصالبية التفاعل والناتجة من الإصابات المتعددة مع الأنواع المصلية للعترات الحقلية واللقاحية المغايرة (4). تميل الأجسام المضادة الناتجة في الدجاج الصغير لتصبح أكثر تخصصية للنوع المصلي، حيث إن التفاعلات التصالبية مع أنتيجينات التعادل الفيروسي ومنع تلازن الدم تكون شائعة في الأمهات والقطعان البياضة (11).

التفريق من العوامل الممرضة قريبة الصلة Differentiation from Closely Related Agents

قد لا تفرق الأمراض التنفسية المصاحبة مع الإصابة بفيروس الالتهاب الشعبي إكلينيكياً من الشكل التنفسي الخفيف من مرض نيوكاسيل والتهاب الحنجرة والقصبة وإنفلونزا الطيور قليلة الضراوة. في هذه الحالات، يعتمد التشخيص على العزل والتعرف على الفيروس أو إظهار الارتفاع في إنتاج الأجسام المضادة النوعية المرتبط مع النقاهة من العدوى.

تسبب العترات الضارية من فيروس مرض نيوكاسيل والتهاب القصبة والحنجرة مرضاً شديداً عن الذي يحدث في وبائيات الالتهاب الشعبي. تشاهد الأعراض العصبية والآفات الحشوية مع النفوق المرتفع في القطعان المصابة بفيروس نيوكاسيل الضاري. يحدث فيروس التهاب القصبة التهاباً نزفياً في القصبة مع نفوق مرتفع في الوبائيات الخطيرة، بالإضافة إلى أن التهاب الحنجرة والقصبة ينتشر بطيئاً في القطعان المصابة.

قد يتشابه أيضاً الزكام المعدي والإصابة بالميكوبلازما مع الالتهاب الشعبي المضاعف مع الإشريكية القولونية. ترتبط متلازمة انتفاخ الرأس مع الالتهاب الشعبي والإشريكية القولونية ومستويات غاز الأمونيا المرتفع. يلاحظ أيضاً تورم الرأس في الزكام المعدي وعدوى الميكوبلازما.

يتشابه التهاب الكلى الملحوظ في الدجاج المصاب بالعترات الممرضة للكلى مع فيروس الالتهاب الشعبي. تشاهد التغيرات الكلوية في أحوال مرضية عديدة مثل مرض جمبورو أو التسمم بالسموم الفطرية أو التسممات الأخرى.

المراجع References

1. Alexander, D. J., and N. J. Chettle. Procedures for the haemagglutination and the haemagglutination-inhibition tests for avian infectious bronchitis virus. Avian Pathol. 6:9-17. 1977.
2. Cowen, B. S., and S. B. Hitchner. Serotyping of Avian infectious bronchitis viruses by the virus-neutralization test. Avian Dis. 19:583-595. 1975.
3. Gelb, J., Jr., C. L. Keeler, Jr., W. A. Nix, J. K. Rosenberger, and S. S. Cloud. Antigenic and S-1 genomic characterization of the Delaware variant serotype of infectious bronchitis virus. Avian Dis. 41:661-669. 1997.
4. Gelb, J., Jr., and S. L. Killian. Serum antibody responses of chickens following sequential inoculations with different infectious bronchitis virus serotypes. Avian Dis. 31:513-522. 1987.
5. Gelb, J., Jr., J. K. Rosenberger, P. A. Fries, S. S. Cloud, E. M. Odor, J. E. Dohms, and J. S. Jaeger. Protection afforded infectious bronchitis virus-vaccinated sentinel chickens raised in a commercial environment. Avian Dis. 33:764-769. 1989.
6. Gelb, J., Jr., J. B. Wolff, and C. A. Moran. Variant serotypes of infectious bronchitis virus isolated from commercial layer and broiler chickens. Avian Dis. 35:82-87. 1991.
7. Jackwood, M. W., H. M. Kwon, and D. A. Hilt. Infectious bronchitis virus detection in allantoic fluid using the polymerase chain reaction and a DNA probe. Avian Dis. 36:403-409. 1992.
8. Karaca, K., S. Naqi, and J. Gelb, Jr. Production and characterization of monoclonal antibodies to three infectious bronchitis virus serotypes. Avian Dis. 36:903-915. 1992.
9. Keeler, C. L., K. L. Reed, W. A. Nix, and J. Gelb. Serotype identification of avian infectious bronchitis virus (IBV) by RT-PCR of the peplomer (S-1) gene. Avian Dis. In press. 1998.

10. King, D. J., and D. Cavanaugh. Infectious bronchitis. In: Diseases of Poultry, 9th ed. B. W. Calnek, H. J. Barnes, C. W. Beard, W. M. Reid, and H. W. Yoder, Jr., eds. Iowa State University Press, Ames, Iowa. pp. 471-484. 1991.
11. King, D. J., and S. R. Hopkins. Evaluation of the hemagglutination-inhibition test for measuring the response of chickens to avian infectious bronchitis virus vaccination. Avian Dis. 27:100-112. 1983.
12. King, D. J., and S. R. Hopkins. Rapid serotyping of infectious bronchitis virus isolates with the hemagglutination-inhibition test. Avian Dis. 28:727-733. 1984.
13. Kwon, H. M., M. W. Jackwood, and J. Gelb, Jr. Differentiation of infectious bronchitis virus serotypes using polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism analysis. Avian Dis. 37:194-202. 1993.
14. Marquardt, W. W., S. K. Kadavil, and D. B. Snyder. Comparison of ciliary activity and virus recovery from tracheas of chickens and humoral immunity after inoculation with serotypes of avian infectious bronchitis virus. Avian Dis. 26:828-834. 1982.
15. Naqi, S. A monoclonal antibody-based immunoperoxidase procedure for rapid detection of infectious bronchitis virus in infected tissues. Avian Dis. 34:893-898. 1990.
16. Naqi, S. A., K. Karaca, and B. Bauman. A monoclonal antibody-based antigen capture enzyme-linked immunosorbent assay for identification of infectious bronchitis virus serotypes. Avian Pathol. 22:555-564. 1993.
17. Shultze, B., D. Cavanagh, and G. Herrler. Neuraminidase treatment of avian infectious bronchitis coronavirus reveals a hemagglutinating activity that is dependent on sialic acid-containing receptors on erythrocytes. Virology 189:792-794. 1992.
18. Thayer, S. G., B. N. Nersessian, B. Rivetz, and O. J. Fletcher. Comparison of serological tests for antibodies against Newcastle disease virus and infectious bronchitis virus using ImmunoComb® solid phase-immunoassay, a commercial enzyme-linked immunosorbent assay, and the hemagglutination-inhibition assay. Avian Dis. 31:459-463. 1987.
19. Thayer, S. G., P. Villegas, and O. J. Fletcher. Comparison of two commercial enzyme-linked immunosorbent assays and conventional methods for avian serology. Avian Dis. 31:120-124. 1987.